



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra



Eidgenössisches Departement des Innern EDI
Bundesamt für Gesundheit BAG

Richtlinien zum Betrieb und zur Überwachung von Heater-Cooler Devices (HCDs) im Operationsaal

Inhalt

1	Das Wichtigste in Kürze	4
2	Hintergrund	5
3	Richtlinien.....	6
3.1	Sofortmassnahmen bei Betrieb von HCDs im Operationsaal	6
3.2	Planung, Dokumentation und Qualitätskontrolle von Instandhaltung und Überwachung der HCDs	6
3.3	Sicherstellen der Rückverfolgbarkeit	6
3.4	Mikrobiologisches Monitoring und Folgemaassnahmen	7
3.5	Abklärungen betriebliche und bauliche Massnahmen.....	7
4	Weiterführende Auskünfte	8
5	Referenzen	8

Technischer Anhang: Anleitung zur Mikrobiologischen Überwachung von Heater-Cooler Devices (HCDs)

1	Allgemeines	1
2	Präanalytik.....	1
2.1	Geeignete Untersuchungsmaterialien für die mikrobiologische Überwachung.....	1
2.2	Empfehlungen zur Probenentnahme und zum Überwachungsintervall bei wasserführenden Geräten in hygienekritischen Bereichen (OP, Intensivstationen)	2
2.3	Probennahme	2
2.3.1	Probennahme Wasserproben 50 ml	2
2.3.2	Probennahme Wasserproben 1 Liter (höhere Sensitivität)	2
2.3.3	Probennahme Oberflächenabstriche	3
2.3.4	Probennahme Luftkeimsammlung	3
3	Probenverarbeitung <i>M. chimaera</i> Untersuchung im Labor	3
3.1	Durchführung 50 ml Wasserproben.....	3
3.2	Durchführung 1 Liter Wasserproben.....	4
3.3	Durchführung Abstriche	4
3.4	Durchführung Luftsammler-Platten	5
3.5	Weiteres Vorgehen und Berichterstattung:.....	5
3.5.1	Bewachsene Nährmedien (MGIT oder Middlebrook 7H11-Agar).....	5
3.5.2	Kein Wachstum von Mykobakterien nach 7 Wochen	6
4	Nachweis von Legionellen	6
4.1	Präanalytik.....	6

4.2	Durchführung im Labor	6
5	Gesamtkeimzahluntersuchung von Wasserproben	6
5.1	Präanalytik.....	7
5.2	Durchführung im Labor	7
6	Weiterführende Angaben.....	8
7	Referenzen	8

1 Das Wichtigste in Kürze

Das Bundesamt für Gesundheit und das Schweizerische Heilmittelinstitut Swissmedic erlassen die folgenden Richtlinien, basierend auf Empfehlungen der Schweizerischen Expertengruppe *Mycobacterium chimaera* Taskforce.¹

1. Alle Heater-Cooler Devices (HCDs)² d.h. Wärme und Kälte-Geräte zur Temperaturregelung bei extrakorporalem Kreislauf sind so zu betreiben, dass die Luft in Operationssälen nicht durch Aerosole aus HCDs kontaminiert werden kann.
2. Freistehende HCDs dürfen im Operationssaal (OP) nur betrieben werden, wenn Wasser im HCD mittels mindestens monatlichem mikrobiologischen Monitoring bewiesenermassen frei ist von *M. chimaera*, Pseudomonaden und Legionellen. Details zum mikrobiologischen Monitoring sind im technischen Anhang zu finden. Nicht betroffen von dieser Regel sind HCD-Modelle mit nachgewiesenermassen luftdichtem Wassersystem, oder Betrieb ohne Wasser.
3. Abklärungen sind vorzunehmen, ob betriebliche oder bauliche Massnahmen zur Vermeidung des HCD-bedingten mikrobiologischen Risikos möglich sind, z.B. der Betrieb von HCDs in einem vom OP getrennten Raum.
4. Die aktualisierten Anweisungen der HCD Hersteller sind zu befolgen – diese Richtlinie soll ergänzend dazu befolgt werden.
5. Einsatz und Unterhalt von HCDs soll in einem Prozessdokument (Standard Operating Procedure) beschrieben sein.
6. Laufende und zugängliche Dokumentation über den Unterhalt und die Überwachung von HCDs (Qualitätskontrolle) und über den Einsatz von HCDs bei Patienten sind sicherzustellen um die Rückverfolgbarkeit (traceability) zu ermöglichen.
7. Beim Einsatz von HCDs in anderen Situationen (zum Beispiel in Intensivstationen) liegt es am Spital, eine eigene Risikoabschätzung vorzunehmen.

¹ Erik C. Böttger, Zürich; Florian Banderet-Uglicioni, Basel; Simon Costabile, Zürich; Samuel Erny, Bern; Céline Gardiol, Bern; Achim Häussler, Zürich; Peter Keller, Zürich; Daniel Koch, Bern; Virginie Masserey, Bern; Rafael Moreno, Bern; Hugo Sax, Zürich; Matthias Schlegel, St. Gallen; Bettina Schulthess, Zürich; Rami Sommerstein, Bern; Thomas Suter, Bern; Markus Wälti, Bern; Andreas Widmer, Basel

² Synonym: Heater-Cooler Units (HCUs)

2 Hintergrund

Im Juli 2014 informierte das Bundesamt für Gesundheit (BAG) zusammen mit Swissmedic die Öffentlichkeit, dass nach Herzoperationen mit Implantaten vereinzelt Infektionen festgestellt wurden, verursacht durch das Bakterium *Mycobacterium chimaera* (1). Das Bakterium, welches den nichttuberkulösen Mykobakterien (NTM) zugeordnet wird, kommt natürlicherweise überall in der Umwelt vor; so auch im Trinkwasser. Zuvor war *M. chimaera* lediglich als seltener Lungenerkrankungs-Erreger bei Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen bekannt.

Seither wurde das Bakterium in der Schweiz bei zehn Patienten mit klinischen Zeichen einer chronischen, systemischen Infektion nachgewiesen, welche vor der Infektion eine Operation am offenen Herzen hatten und Implantate (z. Bsp. Klappenimplantate oder Prothesen der Aorta) erhielten. Die entsprechenden Operationen lagen im Durchschnitt zwei Jahre zurück. Die Operationen fanden unter Einsatz von Hypothermiegeräten bzw. Heater-Cooler-Devices (HCDs) der Firma Sorin (jetzt LivaNova) vom Typ 3T statt (2,3,4).

Weiterführende Abklärungen haben gezeigt, dass die bei diesen Patienten zum Operationszeitpunkt verwendeten Sorin 3T HCDs mikrobiologisch kontaminiert waren. Mikrobiologische Kulturen aus den Patienten- bzw. Kardioplegie-Wasserkreisläufen der Maschinen waren positiv mit Nachweis von *M. chimaera*. Es konnte dokumentiert werden, dass beim Betrieb von derart kontaminierten HCDs Aerosole mit vermehrungsfähigen *M. chimaera*-Bakterien über die Abluft der HCDs in die Umgebung freigesetzt wurden (3). Weltweit sind etwa 70 Patienten bekannt, die nach einer offenen Herz- oder Gefässoperation mit Einsatz einer Sorin/LivaNova 3T-Maschine an einer Infektion mit *M. chimaera* erkrankt sind (Stand Dezember 2016). Entsprechend der Anzahl Herz-/ Gefässoperationen unter Einsatz des fraglichen HCD-Typs ist in Spitälern, in denen Fälle auftraten das Risiko einer *M. chimaera*-Infektion zwischen 1:100 und 1:1000 Patienten (5).

Wasserproben aus Untersuchungen an HCDs anderer Hersteller wiesen in vereinzelt Fällen ebenfalls *M. chimaera* Bakterien auf. Es sind bisher keine wissenschaftlichen Studien zu positiven Luftproben bei kontaminierten HCU anderer Hersteller publiziert worden. Bisher gibt es auch keine publizierten Fälle zu Infektionen mit Nachweis von *M. chimaera* nach Operationen unter Einsatz von HCDs anderer Hersteller.

Der betroffene Hersteller und Gesundheitsbehörden weltweit inklusive das Europäische Centers for Disease Prevention and Control (ECDC), die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) und das Centers for Disease Control and Prevention (CDC) veröffentlichten Alarmmeldungen mit dem dringenden Hinweis, die aktualisierten Herstellerangaben zur Wartung und zum Gebrauch der Geräte zu befolgen (5,6,7).

Wegen Biofilmbildung ist eine permanente Sanierung von mit *M. chimaera* kontaminierten HCDs nach derzeitigem Kenntnisstand nicht möglich (8). Bei geplantem Weiterbetrieb von zuvor kontaminierten Geräten wird deshalb nebst regelmässiger Wartung mit Wasserwechsel und Desinfektion gemäss Herstellerangaben zusätzlich eine mikrobiologische Überwachung der Geräte (Wassertanks) bzw. der Geräteumgebung mittels Wasser- und Luftproben empfohlen.

Da die Infektionen schwierig zu behandeln sind und erst nach einer Latenz von ein Jahr bis zu fünf Jahren erkannt wurden, kommt der Verhinderung neuer Ansteckungen oberste Priorität zu. Die nachfolgenden Richtlinien richten sich an Spitäler, welche HCD-Geräte im Operationsaal einsetzen

und in erster Linie an kardiotechnisches Personal, das mit dem Betrieb und der Wartung von HCDs betraut ist.

3 Richtlinien

3.1 Sofortmassnahmen bei Betrieb von HCDs im Operationsaal

- Es ist sicherzustellen, dass für Ihre HCDs die aktuellsten Herstelleranleitungen zur Verfügung stehen zum Betrieb, zur regelmässigen Reinigung, zur Desinfektion und zur Wartung und dass diese ab sofort unbedingt befolgt werden. Dies gilt für Geräte aller Hersteller. Bei gegenwärtiger Verwendung von Sorin (LivaNova) 3T-Geräten hat diese Massnahme besonders hohe Priorität.
- HCDs jeglicher Hersteller, deren Wasser sichtbare Verfärbungen (algenähnlich) oder Trübungen aufweisen, sind sofort ausser Betrieb zu nehmen. Wasserverfärbungen oder Trübungen können auf bakterielles Wachstum hinweisen. Um zu klären, welche Folgemaassnahmen vor einer allfälligen Wiederinbetriebnahme erforderlich sind, soll mit der lokalen Spitalhygiene und der Vertretung des Herstellers Rücksprache genommen werden.
- HCDs, welche in der Vergangenheit positiv auf *M. chimaera* getestet wurden und für welche keine negative Mykobakterien-Luftkeimmessungs-Laborbefunde vorliegen, sind sofort ausser Betrieb zu nehmen (siehe auch technischer Anhang).
- Die Abluft-Ventilation der HCDs soll weg vom chirurgischen Feld gerichtet werden, um das Risiko zu verringern, dass allenfalls aerosolisiertes Wasser aus dem HCD auf das sterile Feld gelangt und den Patienten einem erhöhten Infektionsrisiko aussetzt.
- Es soll kein ungefiltertes Trinkwasser verwendet werden, um HCDs zu spülen, zu füllen oder wiederaufzufüllen. Für diese Zwecke soll ausschliesslich sterilisiertes Trinkwasser oder Trinkwasser, das durch einen Wasserfilter mit Porengrösse von $< 0.22 \mu\text{m}$ geflossen ist verwendet werden. Deionisiertes Wasser und steriles Umkehr-Osmose-Wasser wird nicht empfohlen, da dieses Korrosionen innerhalb der Systeme begünstigen könnte.
- Deckel der HCD-Wassertänke sollen nicht geöffnet werden, da dies zur Kontamination der Maschinen mit u.a. Umweltbakterien führen könnte.

3.2 Planung, Dokumentation und Qualitätskontrolle von Instandhaltung und Überwachung der HCDs

- Nach Absprache mit der lokalen Spitalhygiene soll ein Plan und Prozessdokument (Standard Operating Procedure, SOP) zur regelmässigen Reinigung, Desinfektion und zur Wartung von HCD angelegt werden.
- Ein Qualitätskontrollprogramm für diese Instandhaltungsprozesse soll eingeführt werden. Die vorgenommenen Schritte zur Reinigung, Desinfektion und Wartung sollen personenbezogen dokumentiert werden.

3.3 Sicherstellen der Rückverfolgbarkeit

- Eine patientenbezogene Dokumentation ist einzuführen, welche die eindeutige HCD-Geräteidentifikation für die jeweilige Operation ermöglicht zum Beispiel über den Vermerk der Geräteseriennummer in der medizinischen Operationsdokumentation. Dies ermöglicht Rückverfolgbarkeit falls nötig (Traceability).

3.4 Mikrobiologisches Monitoring und Folgemaassnahmen

- Ein mikrobiologisches Monitoring soll eingeführt werden für wasserhaltige HCDs **jeglicher** Hersteller mit nicht luftdichtem Abluftsystem welche im OP betrieben werden. Beachten Sie dazu die Anleitung zur Mikrobiologischen Überwachung von HCDs im technischen Anhang dieser Richtlinie.
- Bis auf weiteres sollen mindestens 1x monatlich Wasserproben aus den HCDs auf Mykobakterien, Legionellen und auf die Gesamtkeimbelastung untersucht werden. Bei positiv getesteten Maschinen sind weiterführende mikrobiologische Abklärungen vorzunehmen (Luftproben während Betrieb, Oberflächenabstriche).
- HCDs, die in der Vergangenheit positiv auf *M. chimaera* getestet wurden und die nicht mittels der herstellerseitig empfohlenen Reinigungsmassnahmen dekontaminiert werden konnten (7), sollen durch mikrobiologisch nicht kontaminierte HCD-Geräte ersetzt werden.
- Vor dem Hintergrund der aktuellen Problematik sind Nachweise von nichttuberkulösen Mykobakterien, Legionellen oder anderen gramnegativen Nonfermentern im Wasser aus HCDs spitalhygienisch relevant, und müssen unverzüglich an die verantwortlichen Mitarbeitenden der Spitalhygiene der jeweiligen Einrichtung berichtet werden.
- Für die Beurteilung des mikrobiologischen Risikos sollen die monatlichen Wasser-Untersuchungsergebnisse der HCDs zusammen mit den Ergebnissen von gegebenenfalls veranlassten Luftkeimmessungen und Oberflächenabstrich-Untersuchungen bewertet werden.
- Laut jetzigem Kenntnisstand ist der Weiterbetrieb im Operationsaal eines mit *M. chimaera* kontaminierten HCDs, bei dessen Betrieb in der Umgebung *M. chimaera*-positive Luftkeimmessungen auftraten, nicht sicher. Die entsprechende Maschine sollte sofort ausser Betrieb gesetzt werden und nach Rücksprache mit dem Hersteller gereinigt, desinfiziert und gewartet wird. Bei negativen Luftkeimmessungen und negativen Umgebungs-Oberflächenabstrichen kann das mikrobiologische Risiko gegebenenfalls durch die verantwortliche Spitalhygiene als geringer beurteilt werden. Zusammen mit den verantwortlichen Bereichen entscheidet die Spitalhygiene über den allfälligen weiteren Einsatz kontaminierter HCDs.
- Die mikrobiologischen Überwachungskulturen sollten auch bei wiederholt *M. chimaera*-negativen Untersuchungsergebnissen monatlich durchgeführt werden, da eine Kontamination der Maschinen beim Wasserwechsel nicht auszuschliessen ist.
- Die Spitalhygiene der jeweiligen Einrichtung ist verantwortlich für und organisiert die Durchführung der Untersuchungen, die Sicherstellung der Dokumentation zu den durchgeführten Untersuchungen zur Sicherstellung der Rückverfolgbarkeit sowie für die Ergreifung allfälliger Folgemaassnahmen gemäss dieser Richtlinien.

3.5 Abklärungen betriebliche und bauliche Massnahmen

- Es soll abgeklärt werden, ob betriebliche oder bauliche Massnahmen zur Verringerung des HCD-bedingten mikrobiologischen Risikos möglich sind. Wasserhaltige HCDs können je nach Risikobeurteilung in einem anderen Raum als im Operationsaal betrieben werden. Die Herstellerangaben bezüglich maximaler Schlauchlängen sind zu beachten und es ist mit dem Hersteller abzuklären, ob ein Betrieb in einem benachbarten Raum ohne direkte, visuelle Geräteüberwachung technisch möglich ist.

- Bei Neu- und Ersatzbeschaffungen von HCU-Geräten soll auf alle verfügbaren technischen Angaben geachtet werden und es sollen Geräte mit möglichst geringem Einfluss auf die Luftströmungsverhältnisse in der Geräteumgebung gewählt werden. Herstellerangaben zum Wartungs- und Reinigungsaufwand sind zu beachten.

4 Weiterführende Auskünfte

Bundesamt für Gesundheit

Bundesamt für Gesundheit BAG
Abteilung Übertragbare Krankheiten
Tel. +41 (0)58 463 87 06
epi@bag.admin.ch

Swissmedic

Schweizerisches Heilmittelinstitut Swissmedic
Abteilung Medizinprodukte
Tel. +41 (0)58 462 02 23
questions.devices@swissmedic.ch

5 Referenzen

1. Bundesamt für Gesundheit. Medienmitteilung vom 14.7.2014. Massnahmen für höhere Patientensicherheit in der Herzchirurgie. <https://www.news.admin.ch/message/index.html?lang=de&msg-id=53774>
2. Kohler, P., S. P. Kuster, G. Bloemberg, B. Schulthess, M. Frank, F. C. Tanner, M. Rössle, C. Böni, V. Falk, M. J. Wilhelm, R. Sommerstein, Y. Achermann, J. Ten Oever, S. B. Debast, M. J. Wolfhagen, G. J. Brandon Bravo Bruinsma, M. C. Vos, A. Bogers, A. Serr, F. Beyersdorf, H. Sax, E. C. Böttger, R. Weber, J. van Ingen, D. Wagner, and B. Hasse. 2015. Healthcare-associated prosthetic heart valve, aortic vascular graft, and disseminated *Mycobacterium chimaera* infections subsequent to open heart surgery. *European Heart Journal* **36**:2745-2753.
3. Sax, H., G. Bloemberg, B. Hasse, R. Sommerstein, P. Kohler, Y. Achermann, M. Rössle, V. Falk, S. P. Kuster, E. C. Böttger, and R. Weber. 2015. Prolonged Outbreak of *Mycobacterium chimaera* Infection After Open-Chest Heart Surgery. *Clinical Infectious Diseases* **61**:67-75.
4. Sommerstein, R., C. Rüegg, P. Kohler, G. Bloemberg, S. P. Kuster, and H. Sax. 2016. Transmission of *Mycobacterium chimaera* from Heater-Cooler Units during Cardiac Surgery despite an Ultraclean Air Ventilation System. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1008-1013.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Health Alert Network. 13. Okt. 2016. CDC Advises Hospitals to Alert Patients at Risk from Contaminated Heater-Cooler Devices Used during Cardiac Surgery. <https://emergency.cdc.gov/han/han00397.asp>
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). 21. Nov 2016. Rapid risk assessment: Invasive cardiovascular infection by *Mycobacterium chimaera* associated with the 3T heater-cooler system used during open-heart surgery. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/RRA-mycobacterium-chimaera-November-2016.pdf>
7. United States Food and Drug Administration (U.S. FDA). 13. Oktober 2016. UPDATE: *Mycobacterium chimaera* Infections Associated with LivaNova PLC (formerly Sorin Group Deutschland GmbH) Stöckert 3T Heater-Cooler System: FDA Safety Communication. <http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/AlertsandNotices/ucm520191.htm>
8. Schreiber, P. W., S. P. Kuster, B. Hasse, C. Bayard, C. Rüegg, P. Kohler, P. M. Keller, G. V. Bloemberg, F. Maisano, D. Bettex, M. Halbe, R. Sommerstein, and H. Sax. 2016. Reemergence of *Mycobacterium chimaera* in Heater-Cooler Units despite Intensified Cleaning and Disinfection Protocol. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1830-1833.

Technischer Anhang

Anleitung zur Mikrobiologischen Überwachung von Heater-Cooler Devices (HCDs)

1 Allgemeines

Diese Anleitung dient als technischer Anhang zur „Richtlinie zum Betrieb und zur Überwachung von Heater-Cooler Devices (HCDs) im Operationssaal.“ Die im Folgenden beschriebenen Verfahren dienen dem Nachweis von langsamwachsenden nichttuberkulösen Mykobakterien; im Speziellen von *M. chimaera*. Schnellwachsende Mykobakterien in Umweltproben sind in der Regel ohne Bedeutung.

Ebenfalls beschrieben werden mikrobiologische Verfahren zum Nachweis von Legionellen und die Bestimmung der Gesamtkeimzahl aus Wasser, da weiterführende Untersuchungen von Wasserproben aus HCDs gezeigt haben, dass eine mikrobiologische Belastung mit anderen Keimen als mit Mykobakterien vorliegen kann.

Die für Mykobakterien aufgeführten Verfahren wurden am Nationalen Zentrum für Mykobakterien (NZM; Universität Zürich, Institut für Medizinische Mikrobiologie) in Zusammenarbeit mit der Spitalhygiene des Universitätsspitals Zürich und internationalen Kollaborationspartnern (u.a. dem niederländischen und dem deutschen Referenzlabor für Mykobakterien) entwickelt und evaluiert. Die Methoden wurden in der Fachliteratur veröffentlicht (1, 3-6). Die Verfahren für den Nachweis von Legionellen und für die Bestimmung der Gesamtkeimzahl orientieren sich an den laut Hygieneverordnung des EDI (HyV; SR 817.024.1) vorgesehenen Massnahmen für Trinkwasseruntersuchungen.

Erfahrene Labors können von den unten genannten Nachweisverfahren abweichende Methoden verwenden. Bei Verwendung alternativer Methoden und Nährmedien (z.B. Löwenstein-Jensen anstelle der unten genannten Middlebrook-Medien) sollten vorgängig Validierungsexperimente zur Bestimmung der analytischen Sensitivität durchgeführt werden.

Die Untersuchungen sollten in einem Labor mit Qualitätsmanagementsystem erfolgen (akkreditiertes Labor). Das Labor sollte Erfahrung in der Untersuchung von Umweltproben haben und die Untersuchungen von Umweltproben sollten innerhalb des qualitätsüberwachten Bereichs erfolgen.

2 Präanalytik

2.1 Geeignete Untersuchungsmaterialien für die mikrobiologische Überwachung

- Wasserprobe in sterilem Gefäss (z.B. TTP 50 ml Röhrchen), Volumen 50 ml,
- Cellulose-Nitrat-Filtermembran mit Porenweite 0.45 µm (z.B. Fa. Sartorius, Bestellnr.: 13806-50-ACN) nach Filtration einer 1 Liter-Wasserprobe analog DIN EN ISO 11731-2:2008,
- Abstriche ab Oberfläche in sterilem Gefäss (z.B. TTP 50 ml Röhrchen),
- Luftsammler 90 mm Middlebrook 7H10-Agarplatte nach durchgeführter Luftsammlung.

2.2 Empfehlungen zur Probenentnahme und zum Überwachungsintervall bei wasserführenden Geräten in hygienekritischen Bereichen (OP, Intensivstationen)

Nachfolgend ist die Präanalytik für verschiedene Umweltproben detailliert ausgeführt.

- Allgemein gilt für Umweltprobenuntersuchungen: Der optimale Untersuchungszeitpunkt richtet sich nach der Fragestellung, in der Regel soll der Zeitpunkt des grössten Risikos gewählt werden (= vor regelmässiger Desinfektion bzw. vor Wasserwechsel; für Luftproben während des Betriebs der HCD).
- Transport der Proben: So rasch wie möglich ins Labor (innert höchstens 24 Stunden ab Probenahme).
- Vollständig ausgefülltes Laborauftragsformular beilegen.
- Proben möglichst kühl halten.

2.3 Probennahme

2.3.1 Probennahme Wasserproben 50 ml

- Wasserführende Geräte, welche in hygienekritischen Bereichen (Operationssaal, Intensivstation) eingesetzt werden, sollen in monatlichen Intervallen untersucht werden.
- Die Untersuchungen müssen zeitlich vor den herstellerseitig vorgegeben regelmässigen Wartungen / Desinfektionsmassnahmen durchgeführt werden.
- Die Festlegung und Lage der Probenentnahmestellen (evtl. Anlagenskizze) sowie Name und Qualifikation der fachkundigen Person, die diese Festlegung vorgenommen hat (z.B. Mitarbeiter der Kardiotechnik), sind zu dokumentieren.
- Die Probenentnahmestellen sind für die Untersuchungen verwechslungssicher zu kennzeichnen.
- Technisch getrennte wasserführende Geräteteile müssen getrennt beprobt werden (z.B. Patientenkreislauf, Kardioplegiekreislauf bei HCD-Geräten).
- Die Geräteteile und Probengefässe müssen vor der Probenentnahme klar bezeichnet werden.
- Die Probengefässe sollen innen steril und wasserdicht sein (transportsicher).
- Die minimal zu entnehmende Probenmenge beträgt 50 ml bei Wasserproben.
- Der Zeitpunkt, die Art und die Ergebnisse der Probenuntersuchung müssen rückführbar dokumentiert werden.

Die Proben-Dokumentation zu Händen des Labors und der zuständigen Spitalhygiene sollte folgende Angaben enthalten (auf lokal üblichem Laborauftragsformular):

- Name, Adresse und Telefonnummer des Auftraggebers,
- Name und Anschrift des Objektes/Geräts und des Standortes,
- Vollständiger Name des Probennehmers (möglichst in Blockschrift),
- Datum und Zeitpunkt der Probennahme,
- Eindeutige Beschreibung der beprobten Entnahmestellen.

2.3.2 Probennahme Wasserproben 1 Liter (höhere Sensitivität)

Analoges Vorgehen, sterile 1 Liter Gefässe verwenden.

2.3.3 Probennahme Oberflächenabstriche

Beim Weiterbetrieb von nachgewiesenermassen mit *M. chimaera* kontaminierten HCD-Geräten können in der Geräteumgebung (gleicher Raum, Betriebsstandort des Geräts) bei laufendem HCD-Gerät Oberflächenabstriche abgenommen werden zur Beurteilung des mikrobiologischen Risikos.

Oberflächenabstriche werden mittels mit 0.9% NaCl angefeuchteten Abstrichtupfern auf einer Fläche von 10x10 cm vorgenommen.

Die Dokumentation und Laborbeauftragung erfolgt analog wie bei Wasserproben.

2.3.4 Probennahme Luftkeimsammlung

Beim Weiterbetrieb von dokumentiert mit *M. chimaera* kontaminierten HCD-Geräten können in der Geräteumgebung (gleicher Raum, Betriebsstandort des Geräts) bei laufendem HCD-Gerät Luftkeimsammlungen vorgenommen werden zur Beurteilung des mikrobiologischen Risikos.

Je nach HCD-Geräte-Konstruktion spielt die Betriebsart und die Kühlluftauslassrichtung der Luftkühlungsventilation der Geräte eine Rolle bei der möglichen Keimbelastung der Luft in der Umgebung der Geräte. Die Probennahme sollte in der Nähe und Richtung der Luftauslassöffnung der überwachten HCD-Geräte erfolgen.

Luftproben werden gesammelt mittels eines mikrobiologischen Luftsammelgerätes (z. Bsp. MAS-100 NT; MBV, Stäfa, Switzerland), das mit folgenden Sammeleinstellungen betrieben wird:

- Sammeldauer 2.5 min,
- Sammelrate 100 Liter/min,
- Total 250 Liter Luftsammelvolumen,
- Sammelmedium: 90 mm Middlebrook 7H11-Agarplatten.

Die Dokumentation und Laborbeauftragung erfolgt analog wie bei Wasserproben.

3 Probenverarbeitung *M. chimaera* Untersuchung im Labor

3.1 Durchführung 50 ml Wasserproben

1. Material zentrifugieren (3'300 x g, 15 min, Raumtemperatur) und bis auf ca. 5 ml dekantieren
2. 5 ml Dekontaminationslösung (MycoPrep Kit Fa. BD Bestellnr.: 240862) zugeben
3. Gut vortexen und Röhrchen zweimal kippen
Achtung: extremes Schütteln oxidiert und inaktiviert NALC in Dekontaminationslösung!
4. Die Proben anschliessend 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen
5. Mit 30 ml Phosphatpuffer (als Pulver zum Ansetzen mit im MycoPrep Kit Fa. BD enthalten) auf 40 ml auffüllen (bei 20 ml Proben auf 50 ml auffüllen), Röhrchen verschliessen, jedes Röhrchen von Hand einige Male kippen
6. Zentrifugieren (3'300 x g, 15 min, Raumtemperatur)
7. Überstand vorsichtig in Desinfektionsmittel dekantieren
8. Zur Vermeidung von Kontaminationen den Rand jeweils mit einem in 70% (V/V) Ethylalkohol getränkten Tupfer reinigen
9. Sediment in 2 ml Phosphatpuffer resuspendieren, gut vortexen
10. davon 0.5 ml in MGIT überführen und 0.25 ml auf Middlebrook 7H11-Agar ausimpfen

11. Platten werden 7 Wochen bei 37 °C und 5-10% CO₂ bebrütet
12. Das Restmaterial wird als Rückstellprobe bei +4 °C gelagert und bis zur Erstellung des Endbefundes aufbewahrt.

3.2 Durchführung 1 Liter Wasserproben

Erforderliche Geräte:

- Vakuumpumpe Sartorius Art.-Nr. SM 16692
- Saugflasche 2 Liter Sartorius Art.-Nr. SM 16672
- Vakuumfiltrationsaufsatz Sartorius Art.-Nr. SM 16201
- Woulffsche Flasche Sartorius Art.-Nr. SM 16610

Praktische Durchführung:

1. Wasserprobe (1 Liter) über Cellulose-Nitrat-Filtermembran mit Porenweite 0.45 µm (Fa. Sartorius Bestellnr.: 13806-50-ACN) filtrieren.
2. Filtermembran auf 90 mm Middlebrook 7H10-Agarplatte Platten mittig auflegen und leicht andrücken. Platten werden 7 Wochen bei 37 °C 5-10% CO₂ bebrüten.
3. 1x wöchentlich auf Wachstum kontrollieren.

Bei Wasserproben, aus Geräten die laut Voruntersuchungen polymikrobiell kontaminiert sind, kann eine vorgängige Dekontamination der Filtermembran erforderlich sein:

1. Membranfilter in steriles Röhrchen (Fa. TTP, 50 ml) überführen
2. ca. 7 ml Dekontaminationslösung (MycoPrep Kit Fa. BD Bestellnr.: 240862) zufügen und Röhrchen im Ultraschallbad 1 min bei 50-60 kHz behandeln
3. 20 min auf Schüttler inkubieren, danach Membranfilter entnehmen
4. ca. 7 ml Phosphatpuffer zum Neutralisieren zugeben
5. Zentrifugieren (3'300 x g, 15 min, Raumtemperatur)
6. Überstand verwerfen, Sediment in 2 ml Phosphatpuffer resuspendieren und davon 0.25 ml auf Fest- und 0.5 ml in Flüssigkulturmedien (MGIT Flüssigmedium mit PANTA und Wachstumssupplement) impfen
7. Nährmedien 7 Wochen bei 37 °C inkubieren.

3.3 Durchführung Abstriche

1. Abstrich in 50 ml Röhrchen überführen mit 5 ml sterilem Wasser auffüllen
2. 5 ml Dekontaminationslösung (MycoPrep Kit Fa. BD Bestellnr.: 240862) zugeben
3. Gut vortexen und Röhrchen zweimal kippen
4. Die Proben anschliessend 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen
5. Mit 30 ml Phosphatpuffer auf 40 ml auffüllen, Abstrichtupfer ab diesem Schritt entfernen. Röhrchen verschliessen, jedes Röhrchen von Hand einige Male kippen
6. Zentrifugieren (3'300 x g, 15 min, Raumtemperatur)
7. Überstand vorsichtig in Desinfektionsmittel dekantieren
8. Zur Vermeidung von Kontaminationen den Rand jeweils mit einem in 70% (V/V) Ethylalkohol getränkten Tupfer reinigen
9. Sediment in 2 ml Phosphatpuffer resuspendieren, gut vortexen
10. Davon 0.5 ml in MGIT überführen und 0.25 ml auf Middlebrook 7H11-Agar ausimpfen

11. Nährmedien werden 7 Wochen bei 37 °C und 5-10% CO₂ bebrütet
12. Das Restmaterial wird als Rückstellprobe bei +4 °C gelagert und bis zur Erstellung des Endbefundes aufbewahrt.

3.4 Durchführung Luftsammler-Platten

Platten werden 7 Wochen bei 37 °C und 5-10% CO₂ bebrütet.

1x wöchentlich auf Wachstum kontrollieren.

3.5 Weiteres Vorgehen und Berichterstattung:

3.5.1 Bewachsene Nährmedien (MGIT oder Middlebrook 7H11-Agar)

1. Koloniematerial bzw. MGIT-Kulturmaterial nach Ziehl-Neelsen färben
2. Bei Nachweis von säurefesten Stäbchen Koloniematerial in 3 ml 0.9% NaCl suspendieren
3. 0.5 ml Koloniesuspension verwenden für die molekulare Identifikation, DNA-Extraktion mittels InstaGene Matrix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) gemäss Herstelleranleitung.
4. Molekulares Identifikationsverfahren zur Speziesbestimmung durchführen; z.Bsp. RealTime-16S-rDNA-PCR Protokoll mit 16S-rRNA-Genus-Sonde für Mykobakterien und nachfolgender Ampflifikatsequenzierung (1, 2). Sequenzhomologie 16S-rDNA-Untersuchung mit Datenbankvergleich (z.Bsp. SmartGene IDNS 16S rDNA Database; SmartGene AG, Zug oder NCBI GenBank). Die 16S-rDNA Sequenz von *M. chimaera* unterscheidet sich um ein Mismatch von *M. intracellulare*. Dadurch ist eine Abgrenzung der beiden Spezies möglich (7).

Alternativen:

- a. Kommerzielle molekularbiologische Identifikationssysteme für nichttuberkulöse Mykobakterien (AID Autoimmun Diagnostika GmbH Mykobakterien Line Blot oder HAIN GenoType Mycobacterium AS); **dabei zu beachten:** *M. chimaera* wird gegenwärtig in den kommerziell erhältlichen Line Blots fälschlicherweise als *M. intracellulare* identifiziert. Das NZM kann die Speziesidentifikation auf Verlangen durchführen.
 - b. MALDI-TOF MS-Identifikation: Bruker Daltonic MALDI Biotyper 3.1 Software, MALDI-Protokoll gem. A.B. Pranada et al. (apranada@labmed.de).
5. Kultursuspension bei 4 °C aufbewahren bis Speziesidentifikation erfolgt ist.
 6. 0.5 ml 0.9% NaCl Kultursuspension verwenden um MGIT Röhrchen mit Wachstumssupplement zu inokulieren und mit 0.25 ml Middlebrook 7H11-Agar inokulieren für Stammsammlung.
 7. Bei positivem MGIT Ziehl-Neelsen-Mikroskopie ab Kulturmaterial machen, 0.25 ml positives MGIT-Medium auf Kochblutagar ausimpfen um schnellwachsende Kontaminanten auszuschliessen.
 8. Positives MGIT aufbewahren bis Stammsammlung angelegt wurde.
 9. Identifizierte Mykobakterien an Einsender berichten.
 10. Stammsammlung für allfällige epidemiologische Untersuchungen anlegen.

Kontamination der Nährmedien: Nährmedien entsorgen, falls > 1/3 der Fraktionen mit schnellwachsenden, nicht säurefesten Kontaminanten bzw. mit Schimmel bewachsen ist. Frisches Untersuchungsmaterial anfordern, Untersuchung wiederholen.

3.5.2 Kein Wachstum von Mykobakterien nach 7 Wochen

Material mit "Mykobakterien nicht nachweisbar" berichten, wenn nach 7 Wochen Bebrütung kein Wachstum von säurefesten Stäbchen auftritt.

4 Nachweis von Legionellen

In einigen HCD-Geräten wurden bei Überwachungsuntersuchungen Legionellen nachgewiesen. Monatliche Überwachungskulturen von Wasserproben aus HCU-Geräten werden daher empfohlen.

4.1 Präanalytik

Wasserprobenentnahme (100 ml bis 1 Liter); analog Abschnitt 2.3.1 bzw. 2.3.2.

4.2 Durchführung im Labor

Filtrationsverfahren gemäss DIN EN ISO 11731-2:2008:

1. Wasserprobe (1 Liter) über Cellulose-Nitrat-Filtermembran mit Porenweite 0.45 µm (Fa. Sartorius Bestellnr.: 13806-50-ACN) filtrieren
2. Filter auf GVPC-Legionellen-Agar auflegen
3. 36 °C ±2 °C 5-10% CO₂ für 7 Tage inkubieren
4. Weisse/grau erhabene Kolonien zählen (= Legionellen-Verdacht)
5. Subkultur auf Columbia-Schafblutagar und GVPC-Legionellen-Agar anlegen
6. 36 °C ±2 °C 5-10% CO₂ für 7 Tage inkubieren
7. Wachstum auf GVPC/Wachstum auf Blut = Legionellen negativ
Wachstum auf GVPC/kein Wachstum auf Blut = Legionellen verdächtig
8. Bestätigung mittels molekulare Identifikation oder mittels Latex-Agglutinations-Tests
9. Berichtung der Spezies und der KBE / ml.
10. Stammsammlung für allfällige epidemiologische Untersuchungen anlegen.

5 Gesamtkeimzahluntersuchung von Wasserproben

In einigen Einrichtungen wurden HCD-Geräte betrieben, deren Wasser sichtbare Trübungen bzw. Verfärbungen aufwies. In der Folge wurden bei Wasseruntersuchungen sehr hohe Keimbelastungen mit vor allem *Pseudomonas* sp. und anderen gramnegativen Nonfermentern festgestellt.

Da die Maschinen laut Herstellerangaben mit gefiltertem Trinkwasser zu befüllen sind, ist je nach technischen Vorkehrungen und Filterfunktion mit dem Auftreten einer mikrobiellen Besiedelung zu rechnen. Bei mit Trinkwasser befüllten Anlagen tritt eine grosse Streuung der Gesamtkeimzahl auf (0 bis 1'200 koloniebildende Einheiten [KBE] / ml).

Der im [Anhang 2B](#) der [schweizerischen Hygieneverordnung](#) festgelegte Toleranzwert für Trinkwasser ist < 300 KBE/ml.

Für Trinkwasseruntersuchungen hat das BAG das Verfahren «Bestimmung der Totalzellzahl und des quantitativen Verhältnisses der Zellen niedrigen bzw. hohen Nukleinsäuregehaltes in Süsswasser mittels Durchflusssytometrie» als empfohlene Untersuchungsmethode ins Schweizerische Lebensmittelbuch (SLMB) aufgenommen.

Die Methode wurde an der Eawag, Abteilung Umweltmikrobiologie, entwickelt und unter Mitarbeit von 14 Institutionen aus dem In- und Ausland validiert.

5.1 Präanalytik

Wasserprobenentnahme (100 ml bis 1 Liter); analog Abschnitt 3.1 bzw. 3.2.

5.2 Durchführung im Labor

Für detaillierte Beschreibung siehe:

[Bundesamt für Gesundheit 2012: Durchflusszytometrische Analyse von Wasserproben](https://www.blv.admin.ch/dam/blv/de/dokumente/lebensmittel-und-ernaehrung/lebensmittelsicherheit/verantwortlichkeiten/durchflusszytometrische-analyse-wasserproben.pdf.download.pdf/durchflusszytometrische-analyse-wasserproben.pdf)

<https://www.blv.admin.ch/dam/blv/de/dokumente/lebensmittel-und-ernaehrung/lebensmittelsicherheit/verantwortlichkeiten/durchflusszytometrische-analyse-wasserproben.pdf.download.pdf/durchflusszytometrische-analyse-wasserproben.pdf>

Alternatives Verfahren mit geringerer Sensitivität:

Filtrationsverfahren (siehe Abschnitt 4.2) und Bestimmung der aeroben Keimzahl bei 37 °C auf nicht selektiven Nährmedien.

6 Weiterführende Angaben

Nationales Zentrum für Mykobakterien

Universität Zürich

Institut für Medizinische Mikrobiologie

Dr. Peter Keller, Stv. Leiter

Gloriastrasse 30/32

8006 Zürich

Telefon: +41 44 634 05 16

E-Mail: pkeller@imm.uzh.ch

7 Referenzen

1. **Achermann, Y., M. Rossle, M. Hoffmann, V. Deggim, S. Kuster, D. R. Zimmermann, G. Bloemberg, M. Hombach, and B. Hasse.** 2013. Prosthetic valve endocarditis and bloodstream infection due to *Mycobacterium chimaera*. *Journal of Clinical Microbiology* **51**:1769-1773.
2. **Bosshard, P. P., R. Zbinden, S. Abels, B. Böddinghaus, M. Altwegg, and E. C. Böttger.** 2006. 16S rRNA gene sequencing versus the API 20 NE system and the VITEK 2 ID-GNB card for identification of nonfermenting Gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* **44**:1359-1366.
3. **Kohler, P., S. P. Kuster, G. Bloemberg, B. Schulthess, M. Frank, F. C. Tanner, M. Rössle, C. Böni, V. Falk, M. J. Wilhelm, R. Sommerstein, Y. Achermann, J. Ten Oever, S. B. Debast, M. J. Wolfhagen, G. J. Brandon Bravo Bruinsma, M. C. Vos, A. Bogers, A. Serr, F. Beyersdorf, H. Sax, E. C. Böttger, R. Weber, J. van Ingen, D. Wagner, and B. Hasse.** 2015. Healthcare-associated prosthetic heart valve, aortic vascular graft, and disseminated *Mycobacterium chimaera* infections subsequent to open heart surgery. *European Heart Journal* **36**:2745-2753.
4. **Sax, H., G. Bloemberg, B. Hasse, R. Sommerstein, P. Kohler, Y. Achermann, M. Rössle, V. Falk, S. P. Kuster, E. C. Böttger, and R. Weber.** 2015. Prolonged Outbreak of *Mycobacterium chimaera* Infection After Open-Chest Heart Surgery. *Clinical Infectious Diseases* **61**:67-75.
5. **Schreiber, P. W., S. P. Kuster, B. Hasse, C. Bayard, C. Rüegg, P. Kohler, P. M. Keller, G. V. Bloemberg, F. Maisano, D. Bettex, M. Halbe, R. Sommerstein, and H. Sax.** 2016. Reemergence of *Mycobacterium chimaera* in Heater-Cooler Units despite Intensified Cleaning and Disinfection Protocol. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1830-1833.
6. **Sommerstein, R., C. Rüegg, P. Kohler, G. Bloemberg, S. P. Kuster, and H. Sax.** 2016. Transmission of *Mycobacterium chimaera* from Heater-Cooler Units during Cardiac Surgery despite an Ultraclean Air Ventilation System. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1008-1013.
7. **Tortoli, E., L. Rindi, M. J. Garcia, P. Chiaradonna, R. Dei, C. Garzelli, R. M. Kroppenstedt, N. Lari, R. Mattei, A. Mariottini, G. Mazzarelli, M. I. Murcia, A. Nanetti, P. Piccoli, and C. Scarparo.** 2004. Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the *Mycobacterium avium* complex, to species rank as *Mycobacterium chimaera* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **54**:1277-1285.